

卵黄溶解试验在常见革兰氏阴性细菌中的鉴别价值

杨正时 钟 熙

(中国药品生物制品检定所,北京)

在培养基中加入卵黄常用于鉴定革兰氏阳性细菌^[1]及某些厌氧菌^[2],以检查其产生卵磷脂酶的能力。作者用以检查常见的革兰氏阴性杆菌(包括弧菌),发现它对某些细菌具有重要的鉴别价值,现报告如下。

材料与方 法

(一) 菌株

肠杆菌科 17 个种属的细菌 391 株,绿脓杆菌 33 株,弧菌科 7 个种属的细菌 196 株,共计 620 株。大多来自中国医学细菌保藏中心,部分菌株系由作者分离的。

(二) 卵黄液制备

新鲜鸡蛋,用碘酒及酒精消毒外壳后,用无菌镊子在其二头各开一小口,流尽蛋清后,取出卵黄于含玻璃珠的无菌三角瓶中振荡,均匀后备用。

(三) 卵黄琼脂

在加热熔化的 90ml 营养琼脂中加入 10ml 卵黄液,摇匀倒注平皿,每皿 15ml。

(四) 试验方法

卵黄琼脂平皿使用前于 37℃ 开盖保温使表面干燥 20 分钟,平皿划格标记菌号,用白金耳取新鲜斜面培养物点涂于卵黄琼脂平皿表面,37℃ 培养过夜后检查,必要时延长培养时间。在菌苔周围有透明晕带,表明该菌溶解卵黄,即为阳性(+),其晕带宽度超过 2mm 为(++),未见透明晕带为阴性(-),每皿一般接种 20 个菌株。

结 果

(一) 肠杆菌科细菌溶卵黄反应

25 个种属的 620 株常见的革兰氏阴性杆菌在卵黄琼脂上的反应是不一致的(表 1)。所有 391 株肠杆菌科细菌,其中包括大肠杆菌、沙门氏菌、志贺氏菌、产气杆菌、阴沟杆菌、哈夫尼

表1 革兰氏阴性杆(弧)菌的溶卵黄反应

菌名	株数	结果
大肠杆菌(人源)	143	-
大肠杆菌(猪源)	50	-
沙门氏菌(各型)	126	-
志贺氏菌(各型)	55	-
产气杆菌	2	-
阴沟杆菌	1	-
哈夫尼亚菌	1	-
肺炎克雷伯氏菌	1	-
臭鼻克雷伯氏菌	1	-
鼻硬结克雷伯氏菌	1	-
变形杆菌	2	-
摩根氏菌	1	-
粘质沙雷氏菌	1	-
爱德华氏菌	1	-
枸橼酸杆菌	1	-
小肠结肠炎耶氏菌	2	-
司徒氏普鲁非登斯菌	1	-
产碱普鲁非登斯菌	1	-
绿脓杆菌	33	+
类志贺邻单胞菌	19	-
气单胞菌	24	+
副溶血性弧菌	41	+
溶藻弧菌	2	+
河弧菌	37	+
拟态弧菌	2	+
古典型霍乱弧菌	2	+
爱尔托霍乱弧菌	2	+
非O1群霍乱弧菌	67	+

表2 绿脓杆菌卵黄溶解与培育时间的关系

卵黄溶解反应	时 间 (h)			
	15	24	40	72
-	13(39.4%)	9(27.3%)	5(15.1%)	0
+	19(57.6%)	19(57.6%)	13(39.4%)	18(54.5%)
++	1(0.3%)	5(15.1%)	15(45.5%)	15(45.5%)

单胞菌以及弧菌科中的副溶血性弧菌、溶藻弧菌、河弧菌、拟态弧菌和霍乱弧菌(包括O1群的古典生物型及爱尔托生物型与非O1群)均具有高度的溶卵黄特性,特别是古典型与爱尔托霍乱弧菌更为强烈。

讨 论

卵黄中含有多种脂类,特别含有丰富的卵磷脂,因此常用此作为基质来测定细菌的卵磷脂酶活性,尤其在产气荚膜杆菌、芽孢杆菌和金黄包葡萄球菌鉴别试验中更广泛应用,而在革兰氏阴性细菌中应用很少。我们在检查391株肠杆菌科斜面保存菌株时,在肉眼未见污染的情况下可见试验阳性,但一经分离均证明为污染有杂菌,主要是革兰氏阳性的球菌或杆菌,由于这一试验的灵敏性,因此可以作为肠杆菌科细菌贮存菌株鉴定检查时的一种辅助方法。肠杆菌科细菌不含有溶解脂类的酶,即使是粘质沙雷氏菌,它较肠杆菌科细菌含有更丰富的胞外酶,但卵黄溶解试验仍为阴性,因此,卵黄溶解是鉴别肠杆菌科细菌的有效方法。

弧菌科细菌中的大多数种是耐盐的,在少数不耐盐的弧菌科细菌中主要是类志贺邻单胞菌、气单胞菌和弧菌属中的霍乱弧菌与拟态弧菌。类志贺邻单胞菌与气单胞菌由于是杆状,在常用的肠道鉴别培养基中生长良好,也十分相似而不易鉴别,卵黄溶解试验能敏感而准确地分类志贺邻单胞菌与气单胞菌,在弧菌科细菌的属别诊断上也具有重要的鉴别价值。由于类志贺邻单胞菌在许多生物学特性与抗原性上与肠杆菌科细菌存在共同性,对类志贺邻单胞菌的分类学地位作者曾提出异议^[3],本文中

亚、克雷伯氏菌、变形杆菌、摩根氏菌、粘质沙雷氏菌、爱德华氏菌、枸橼酸杆菌、小肠结肠炎耶氏菌和普鲁非登斯菌,均不溶解卵黄,即使将培育时间延长到72小时,也为阴性,说明肠杆菌科细菌不产生能溶解卵黄的酶类。

(二) 绿脓杆菌溶卵黄特性

绿脓杆菌溶解卵黄的特性与培养时间有关(表2),在15小时阳性率为57.9%,24小时为72.7%,到第3天才全部阳性。说明有些绿脓杆菌产生卵黄溶解酶的能力较为微弱,还不足以使卵黄透明,待积聚到相当时间后才能阳性,因此,这是与肠杆菌科细菌不同之处。

(三) 弧菌科细菌溶卵黄反应

测定了弧菌科细菌中与医学有关的三个属菌株的卵黄溶解性能,除类志贺邻单胞菌外,气

类志贺邻单胞菌的卵黄溶解特性与肠杆菌科细菌的一致性也是一个有力佐证。

参 考 文 献

[1] Doyle R. J. et al.; Manual of Clinical Micro-

biology, Fourth Edi, Edited by Lennette E. H., P211—215, 1985.

[2] Allen S. D. et al.: *ibid.* P413—433, 1985

[3] 杨正时等: 腹泻病专辑, 中华流行病学杂志社出版 133, 1988。